

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2020 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

平谷 伊智朗

理化学研究所 生命機能科学研究センター
チームリーダー

潜在的不安定性から読み解くゲノム設計原理

§ 1. 研究成果の概要

酵母から哺乳類まで、ゲノム DNA 複製の研究は、主に万単位の細胞集団を用いて展開されてきた。これは、1 細胞レベルでゲノム DNA 複製の真の姿を捉えることが難しかったからだが、最近、我々は、1 細胞全ゲノム DNA 複製解析法 scRepli-seq を開発した (Takahashi et al., Nat Genet, 2019)。本解析法では、1 個の細胞から取り出した全ゲノム DNA を均等に増幅して次世代シーケンサーによって解読し、各領域のリード数の相対的な比から複製される前 (1コピー) と複製された後 (2コピー) の領域を識別することができる。このシンプルな原理で、ゲノム DNA が複製されていく様子が 1 細胞レベルで解析できるようになった。しかも、scRepli-seq 法は DNA 複製研究の枠にとどまらず、ゲノム DNA 複製と密接にリンクしているクロマチン高次構造の推定、さらには、染色体異常の検出にも利用できるなど応用性が高い。しかし、scRepli-seq 法は実験とインフォマティクス解析の知識が要求されるため、初心者にはかなりハードルが高い。本年度、我々は、scRepli-seq 法を多くの研究者に広く使ってもらうために、実験と解析のプロトコールの詳細を余すところなく公開し、さらに未公開の方法論についても解説することで、この問題を解決した (Miura et al., Nat Protoc, 2020)。しかも、本論文をまとめていく過程で解析面での新たな発見がたくさんあり、評価基準が増え、結果的に scRepli-seq 技術自体もさらに向上した。DNA 複製研究の枠にとどまらず、ゲノム DNA を扱うあらゆる研究者に本技術を使って頂きたいと考えている。

§ 2. 研究実施体制

(1) 平谷グループ

- ① 研究代表者: 平谷 伊智朗 (理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・A/B コンパートメント制御因子の網羅的同定と機能解析
 - ・TAD および A/B コンパートメントの細胞周期動態の解析
 - ・マウス初期胚発生に伴う複製タイミングと A/B コンパートメントの動態解析
 - ・潜在的に異数化しやすい染色体を安定化する因子の網羅的探索と機能解析
 - ・複製困難ゲノム領域の網羅的同定
 - ・scRepli-seq の解像度の飛躍的向上による第二世代化 (scRepli-seq 2.0 化) の実現
 - ・scRepli-seq を起点とした多次元 1 細胞全ゲノム解析の実現

(2) 竹林グループ

- ① 主たる共同研究者: 竹林 慎一郎 (三重大学大学院生物資源学研究科 准教授)
- ② 研究項目
 - ・マウス 3T3-L1 脂肪細胞分化時の細胞周期動態の解析
 - ・長鎖 DNA 配列をクローニング可能なベクターの構築
 - ・ヒト老化細胞から染色体異数性解析のための scRepli-seq サンプルを調製

•scRepli-seq プロファイルとトランスクリプトームの同時検出が可能な実験条件の検討

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Mapping replication timing domains genome wide in single mammalian cells with single-cell DNA replication sequencing”, *Nature Protocols*, vol. 15, No. 12, pp.4058-4100, 2020
- 2) “Formation of a multi-layered 3-dimensional structure of the heterochromatin compartment during early mammalian development”, *Dev Growth Differ*, vol. 63, pp.5-17, 2021
- 3) “The temporal order of DNA replication shaped by mammalian DNA methyltransferases”, *Cells*, vol. 10, pp.266, 2021
- 4) “Dynamics of transcription-mediated conversion from euchromatin to facultative heterochromatin at the *Xist* promoter by *Tsix*”, *Cell Reports*, vol. 34, pp.108912, 2021